

単一細胞分光トモグラフィーにおける正規化相関仮想投影像照合による回転中心補正アルゴリズム

八十川利樹*・石丸伊知郎・石崎 勝己・吉田 真

香川大学工学部知能機械システム工学科 〒761-0396 高松市林町新町 2217-20

Correction Algorithm of Rotational Center by Matching with Virtual Projection Image Using Normalized Correlation for Spectroscopy-Tomography of Single Cells

Toshiki YASOKAWA*, Ichirou ISHIMARU, Katsumi ISHIZAKI and Makoto YOSHIDA

Faculty of Engineering, Kagawa University, 2217-20 Hayashi-cho, Takamatsu 761-0396

We previously proposed the application of spectroscopy-tomography of single cells to improve the early detection and treatment of cancer. This technology can obtain the 3-dimensional distribution of components at a high spatial resolution. The center of rotation is displaced because the cells have a complex refractive index distribution and axial runout has to be eliminated to obtain the correct 3-dimensional distribution. For this purpose, we experimented with image processing that employs a normalized correlation function as an estimation value. The runout of the axis is corrected for its translation and rotation by an affine transformation. We determined the affine transformation parameter by evaluating the similarity between the real projection image and the virtual projection image which is a reprojection of a preliminarily reconstructed CT image. Using this algorithm, the cross-sectional image of the microsphere 10 μm in diameter was improved and the vague internal submicron-sized defect became more clearly distinguishable.

Key words: matching, normalized correlation, steepest descent method, computed tomography, affine transformation, spectroscopy, single cell

1. 緒 言

筆者らは、直径 10 μm 程度の単一細胞内の三次元成分分布を、高い空間解像度で計測する単一細胞分光トモグラフィーを提案している^{1,2)}。本手法は、細胞を回転させながら多方向から二次元分光分布を計測し、三次元分光分布へと変換する CT (computed tomography) の技術である。一般に CT とは、対象物体を透過して得られる二次元投影像をさまざまな方向から取得し、三次元の内部構造を計算機で再構成する手法である。

筆者らは、単一細胞分光トモグラフィーの要素技術である単一細胞回転操作技術として、近接二光束ピンセット方式を提案している³⁻⁶⁾。本手法は、5 μm 程度の近接した間隔で照射した二光束それぞれの集光点方向に生じる光圧力の求心力の釣り合いにより、二光束間の中心点に粒子の回転中心を捕捉して回転トルクを与える手法である。細胞はミトコンドリア等の多様な細胞小器官から構成されてお

り、複雑な屈折率分布を有している。このため、求心力の釣り合いが屈折率分布に応じて変化するため、二光束間の中心点から細胞の回転中心がずれてしまう。この回転中心のずれは、二次元投影像上では平行移動と回転移動のずれとして反映されており、三次元再構成像の空間解像度劣化の大きな要因となる。また近年、TEM (transmission electron microscope) を用いて微小物体の三次元構造を取得する試みがなされており、同様の問題を生じている。

従来、X 線 CT 等では測定対象を機械的に固定することで、回転中心のずれを生じさせない工夫がなされてきた。しかし、近接二光束ピンセット方式では、測定対象である細胞自体を回転させる。そこで筆者らは、取得した複数枚の二次元投影画像データを、平行移動および回転移動することにより回転中心のずれを補正する、正規化相関仮想投影像照合アルゴリズムを提案する。本手法では、細胞に対する投影方向を $0^\circ\sim 360^\circ$ の範囲で変化させ、例えば

* E-mail: s05g527@stmail.eng.kagawa-u.ac.jp

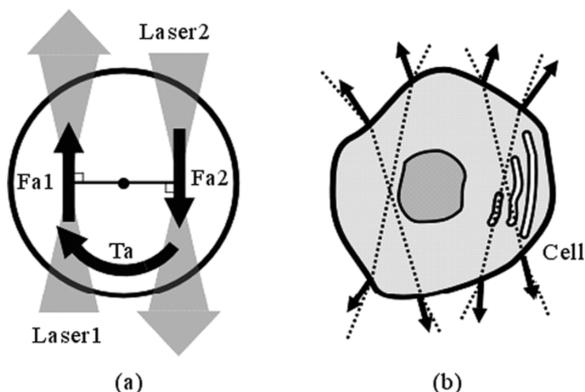


Fig. 1 Light pressure generated by absorption and refraction.

1°ごとに二次元投影像を360画像撮像する。これら数十から数百枚程度の回転中心ずれを含んだ二次元実投影画像データから、いったん三次元再構成像を求める。この低解像度の三次元像を用いて、各回転角度ごとに二次元仮想投影像を算出し、撮像した実投影像との類似度を評価する。類似度評価には、仮想投影像を算出する際に設定しなくてはならない計算上の光量と、実投影像を撮像する際に照射した光量の違いに依存しない手法が必要となる。そこで、画面全体の平均照射光量差に依存しない正規化相関関数を評価値とした画像照合を行うこととした。本評価値は、両投影像のパターンの類似度が相関係数として算出されるため、平均光量差によらない濃淡画像照合が可能となる⁷⁾。そこで、すべての二次元投影像に関して、正規化相関係数を評価値として、平行移動および回転移動の補正量を最急降下法により探索的に求めた。しかし、この求めた補正量は、回転中心にずれを含んだ実投影像から算出した仮想投影像との照合で得られた値であることから、一通りの処理手順では十分に補正できない。そこで、全実投影像を補正値によりアフィン変換した補正投影像を用いて、改善された三次元再構成像を新たに算出して仮想投影像を再計算し、補正量を全補正投影像に関して探索的に求め直す。以上の手順を、判定条件を満たすまで繰り返すことで、回転中心のずれを十分に補正した投影像を得ることができる。

本報告では、提案する正規化相関仮想投影像照合アルゴリズムについて詳細に説明する。また、直径10 μm の標準粒子を試料として用い、回転中心にずれを生じた実投影像を改善して得られた内部欠陥検出結果について報告する。

2. 細胞内屈折率分布による回転中心位置ずれ

単一細胞分光トモグラフィーの要素技術である単一細胞回転操作技術として、近接二光束ピンセット方式を提案し

ている。本手法は Fig. 1 (a) に示すように、細胞に対して上下から二光束を数 μm 間隔で対向させて照明し、各光束で生じる吸収による光圧力 F_{a1} , F_{a2} を利用することで回転トルク T_a を発生させている³⁻⁶⁾。このとき、細胞は屈折率境界面において生じる反射、屈折や内部の吸収による光圧力や浮力などが釣り合う位置に捕捉される。従来の光トラップの原理^{8,9)}によると、細胞の捕捉位置に関しては、光の屈折による運動量変化で発生する光圧力が支配的となる。Fig. 1 (a) のような真球で屈折率分布が一様な微粒子を回転試料として用いた場合、二光束が屈折することにより生じる光圧力のバランスは回転に伴い変化しないため、回転中心は粒子の重心と一致する。しかし、Fig. 1 (b) のような細胞はミトコンドリア等の多様な細胞小器官や細胞核から構成されており、内部に非常に複雑な屈折率分布を有している。さらに、外形が複雑であることから、各光束で生じる捕捉力のバランスが回転に伴い崩れる。これにより、各回転角度における捕捉位置が変化し、回転中心位置にずれを生じる。これは三次元構造に再構成する際、解像度の劣化をもたらすことから回転中心ずれ量を補正する手法が必要となる。

Fig. 2 (a) は、細胞が z 軸方向に投影され、 x 軸を回転軸として回転する様子を示している。本座標系では、細胞の回転中心を xyz 座標の原点としている。回転のずれ量としては、 x , y , z 軸方向の細胞の回転中心位置の並進変位、 x , y , z 軸周りの細胞の回転変位が考えられる。 z 軸方向の細胞の並進変位に関しては、近接二光束ピンセット手法を用いると細胞に捕捉力が働き、投影像観察光学系の焦点深度内に収まるため無視できる。これは、平行光束を試料に照射する X 線 CT についても同様で、 z 軸方向のずれは投影像に影響しない。したがって、一般的な CT 技術においても補正しきれない x , y 軸方向の細胞の並進変位の補正が必要となる。 x , y 軸周りの回転変位に関しては、近接二光束ピンセットにより制御可能であるため、回転変位を計測してフィードバックすることで補正する手法を検討している¹⁰⁾。また、モーターの軸に固定した試料を回転させて投影像を得る TEM の CT 技術では、モーターの回転軸を x 軸として定義できる。この x 軸周りの回転量は、モーターにより制御できるため、回転変位を補正する必要はない。さらに、モーターの軸を基準に座標を設定できるため、 y , z 軸周りの回転変位は生じない。したがって、近接二光束ピンセットで制御できない z 軸周りの回転変位の補正が必要となる。例えば、Fig. 2 (b) に示すように、 x , y 軸方向の並進変位 Δx , Δy と、 z 軸周りの回転変位 $\Delta \theta_z$ が生じると、投影面においては等量の並進

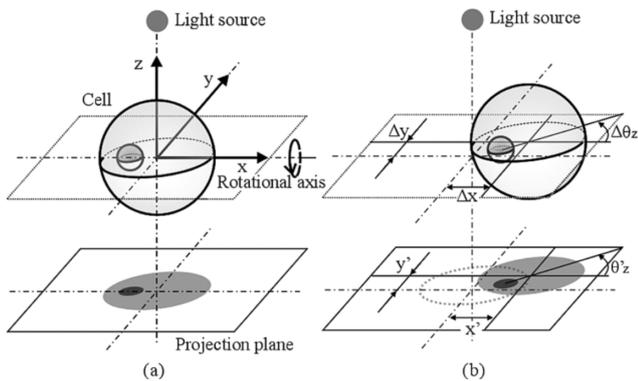


Fig. 2 Moving direction of the rotational center.

変位 x' , y' と回転変位 θ'_z として反映される。そこで、投影像のずれ量 (x' , y' , θ'_z) を推定して、実投影像を平行移動および回転移動することで補正することとした。

3. 正規化相関仮想投影像照合アルゴリズム

各回転角度における投影像の回転中心位置を一致させるため、各投影像に平行移動と回転移動、つまりアフィン変換を施すことで補正する。 $f(x_{i0}, y_{i0})$ の濃度値分布をもつ画像を変換して得られる画像の濃度値分布を $g(x_i, y_i)$ とすると、アフィン変換は次の式 (1) で表される。

$$\begin{bmatrix} x_i \\ y_i \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \cos \theta_i & -\sin \theta_i \\ \sin \theta_i & \cos \theta_i \end{bmatrix} \begin{bmatrix} x_{i0} \\ y_{i0} \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} \Delta x_i \\ \Delta y_i \end{bmatrix} \quad (1)$$

この際、平行移動成分 Δx_i , Δy_i と回転成分 θ_i を推定する必要がある。ここで、 i は一定の角度ごとに取得した投影像の番号である。そこで、筆者らは、正規化相関を評価関数とした正規化相関仮想投影像照合アルゴリズムを提案する。Fig. 3 に、本アルゴリズムの大まかな流れに関して、投影画像を用いて模式的に示す。まず、X線CT等の一般的な断層像解析技術と同様に、試料に対する投影方向を $0^\circ \sim 360^\circ$ の範囲で変化させ、各回転位置における投影像を取得する。これら複数の二次元の投影像から、CT解析手法を用いて三次元構造を再構成する。次に、この実投影像から算出した三次元構造から、仮想的に二次元の投影像を求める。筆者らの提案手法では、この仮想投影像と実投影像の類似度を評価値としてアフィンパラメーター (Δx_i , Δy_i , θ_i) を探索的に決定する。これらの処理を全実投影像において行う。

仮想投影像を作成する際に計算上設定しなくてはならない光量と、実投影像を得る際に照射した光量は異なる。そこで、正規化相関係数を評価指標として、画面全体の平均照射光量差に依存しない画像照合を行うこととした。正規化相関係数は、同じ画素の輝度値を2画像間で比較した場

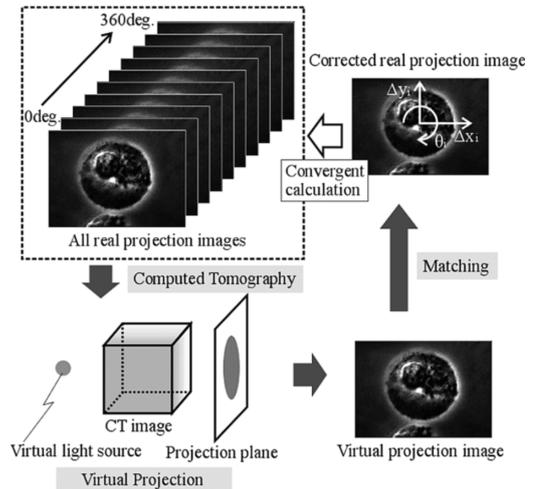


Fig. 3 Schematic diagram of the proposed algorithm.

合の相関係数である。例えば、両投影像のパターンが完全に一致した場合は、2画像間の平均光量比率が傾きとなった直線上に全輝度データが並ぶため係数は1となる。つまり、平均光量差に依存しない濃淡画像照合が可能となる。正規化相関係数 R は式 (2) により定義される⁷⁾。ここで、 $r(p, q)$ は実投影像の座標 (p, q) における画素の濃度値、また $v(p, q)$ は仮想投影像の濃度値である。

$$R = \frac{\sum \sum r(p, q) v(p, q)}{\sqrt{\sum \sum r(p, q)^2} \sqrt{\sum \sum v(p, q)^2}} \quad (2)$$

実投影像を平行移動および回転移動させ、この係数 R が最大となるアフィンパラメーターを探索する。そこで、効率的な探索手法として知られている式 (3) で表される最急降下法を用いる。一般的に、この最急降下法を用いる場合、ローカルミニマムに配慮する必要がある。しかし、単純な繰り返しパターンであればローカルミニマムに陥りやすいが、細胞のような多様なテクスチャーで構成されるものは、比較的容易に回避することができる。また、細胞の外形によりほぼ照合される点から、最急降下法に慣性項を加えるのみで対応できると考えた。

$$\begin{aligned} X_{n+1} &= X_n + \Delta X_n \quad (X \equiv (\Delta x_i, \Delta y_i, \theta_i)) \\ \Delta X_n &= (1 - \beta) \alpha \frac{\partial R_n}{\partial X_n} + \beta \Delta X_{n-1} \end{aligned} \quad (3)$$

ここで、 X はアフィンパラメーター (Δx_i , Δy_i , θ_i)、 n は更新回数、 R_n は正規化相関関数によって求められた相関係数、 α は荷重係数、 β は慣性定数とよばれる正の定数であり $0 < \beta < 1$ である。

最急降下法によりアフィンパラメーター (Δx_i , Δy_i , θ_i) を各実投影像で算出し、アフィン変換することで回転中心位置の補正された投影像を得ることができる。しかし、こ

Table 1 Properties of microspheres.

Item	Property
Material	Borosilicate glass
Diameter	10 (± 1) μm
Refraction index	1.56
Density	2.50~2.55 g/cm^3

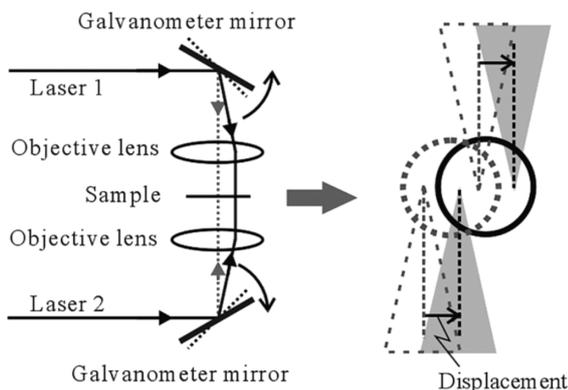


Fig. 4 Schematic diagram of the proximal two-beam optical tweezers.

のとき求めたパラメーターは、回転中心にずれがある実投影像から算出した仮想投影像との照合で得られた値であることから、以上で述べた処理手順を一通り実行するだけでは決定することができない。そこで、アフィン変換により補正した投影像を用いて、新たに三次元構造を再構成することにより、改善された仮想投影像を算出する。以上の処理手順を、正規化相関係数が閾値以上となるまで、あるいは仮想投影像の改善前後で算出したアフィンパラメーターの更新量が設定した値以下になるまで繰り返す。つまり、この2通りの条件を測定対象の特徴等に合わせて適切に選択、あるいは組み合わせて終了判定を行う。これにより、収束計算を行うことで、回転中心位置を十分に補正した投影像を得ることができる。

4. 標準粒子投影像取得実験

Table 1 に示す、内部に微小な欠陥を有する標準粒子（直径：10 μm ，材質：ホウ珪酸ガラス）を用いた実験により、任意に回転中心位置の面内変位を与えた場合の提案アルゴリズムの評価を行った。標準粒子はテクスチャーが少ないため、画像照合が困難な条件下での評価を行うことができる。さらに、点状の内部欠陥が画像上目視で判別しやすいことから、改善効果の確認が容易となる。

この標準粒子を回転させながら、任意に回転中心にずれを与えて投影像を撮像した。Fig. 4 に近接二光束ピンセット光学系の概略を示す。また、この近接二光束ピンセット

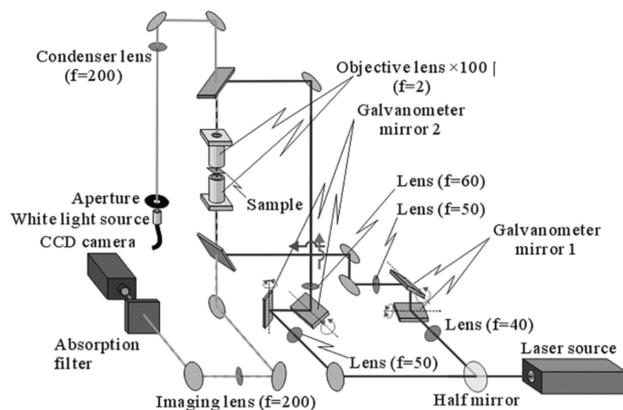


Fig. 5 Schematic diagram of the experimental optical system.

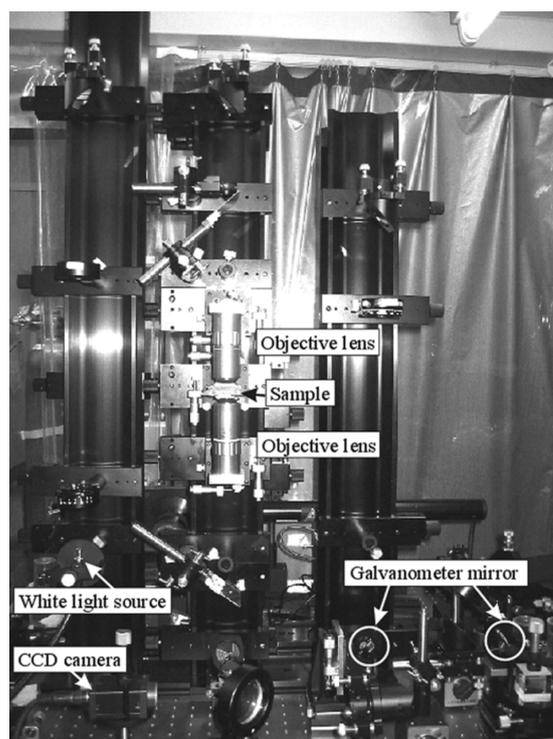


Fig. 6 Photograph of the optical system.

光学系に観察光学系をあわせて構築した実験光学系の概略を Fig. 5 に、写真を Fig. 6 に示す。レーザー光源（メーカー：COHERENT 社、品名：Verdi V-5、波長：532.5 nm，出力：10 mW~5 W）から射出した平行光を二光束に分岐し、この二光束それぞれをサンプルの上下に設置した対物レンズ（メーカー：Mitutoyo、型式：378-806-2、開口数：0.7）に入射する。この対物レンズにより、Fig. 4 中高さ方向は同じで水平方向へ 6 μm 程度離れた近接した位置を集光点として、上下別々の方向から標準粒子を照射した。それぞれの光束による光圧力は、従来の光ピンセットとして知られているように、集光点への求心力として働く。本手

法の場合、二光束それぞれの光圧力による集光点への求心力の釣り合いにより、標準粒子は二光束間の中央に捕捉される。また、光吸収による光圧力は光進行方向に加わることから、上下対向させて照射することにより、二光束間を回転中心とした回転トルクを生じることが可能となる³⁻⁶⁾。さらに、本評価実験では、ステッピングモーターで駆動するガルバノミラー（メーカー：TEM，型式：モデル 67022，ストローク：±15°）を光路上に設置し、その傾きを操作することで、二光束間隔を保ったまま照射位置を水平方向に同期して移動させた。例えば、Fig. 4 中点線で示すように、右方向に二光束を同期して移動させることにより、回転中心位置を任意の量だけ右方向に移動させることが可能となる。

Fig. 7 に、CCD カメラ（メーカー：SONY，型式：XC-ST50）により撮像した連続回転画像を示す。観察光学系の光源には、メタルハライドランプ（メーカー：シグマ光機，型式：IMH-250）を用いてケラー照明した。つまり、本実験により取得する投影像は、白色光の平均分光吸収率に基づいた投影吸収分布を取得したこととなる。なお、1画素のサイズを $0.2\ \mu\text{m}$ とするため観察光学系の倍率を 100 倍とした。また、標準粒子は純水に浮遊させており、二光束ピンセットの間隔を $6\ \mu\text{m}$ ，集光径は約 $1\ \mu\text{m}$ ，試料表面での各光束の照射光量を $25\ \text{mW}$ とした。Fig. 7 (a) 中に示した白丸は、紙面に対して垂直に表から裏方向にレーザーを照射した位置、×印は白丸とは逆方向に照射した位置を示しており、これら 2 照射点の中央が回転中心となる。粒子を、2 照射点を結ぶ直線に対して、回転中心を含む垂直な軸回りに回転させることができた。さらに、二光束を Fig. 7 中上下方向に移動させ、回転中心位置に任意にずれを生じさせた。近接二光束ピンセットを用いると、粒子の捕捉位置は二光束それぞれの光圧力による集光点への求心力の釣り合いにより決定される。この求心力は、粒子の中心が光束の位置に向かう方向に作用する。また、光束が粒子の中心位置から離れるほど求心力は強くなる。このため、求心力は常に粒子を二光束の中心位置に捕捉するように働くことから、片方の光束が粒子から外れることはない。したがって、二光束の間隔が $6\ \mu\text{m}$ で直径 $10\ \mu\text{m}$ の粒子を扱う場合、 $2\ \mu\text{m}$ が最大のずれ量となる。そこで、本実験では、二光束の移動量が $2\ \mu\text{m}$ になるように、ガルバノミラーの傾きを操作した。回転速度は 0.8 回転/秒であり、粒子の屈折率分布がほぼ一様であることから、等速運動とみなしてフレームレートで 24 枚の二次元投影像 (128×128 画素) を取得した。つまり、 15° ごとの実投影像を取得したことになる。Fig. 7 (c) の回転角度

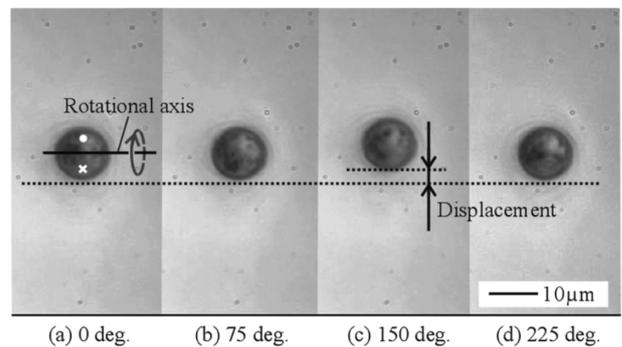


Fig. 7 Sequential photographs of rotating microsphere.

150° において、最大回転中心位置ずれ量約 $2\ \mu\text{m}$ を生じさせることができた。これらの回転中心ずれを含む 24 枚の実投影像を用いて、本アルゴリズムの評価を行った。

5. 断層像改善結果

前章で得た 24 枚の実投影像から三次元吸収係数分布を再構成した。本実験においては、白色光を光源として用いたため、これらの画像の各画素の濃度値はその点におけるすべての波長の平均的な吸収係数の線積分値に等しい。したがって、これら 24 枚の実投影像から、CT 解析手法を用いることにより吸収係数の三次元分布を取得することができる。再構成手法としては、X 線 CT 等で標準的に用いられるフィルター補正逆投影法を使用した¹¹⁾。また、実投影像に適用するフィルターには、以下の式 (4) で表される Ramp フィルターを使用した¹¹⁾。

$$g(k\omega) = \begin{cases} 1/4\omega^2 & k=0 \\ -1/(\pi k\omega)^2 & k:\text{奇数} \\ 0 & k:\text{偶数} (\neq 0) \end{cases} \quad (4)$$

ここで、 ω は投影像の標本点間隔、 k は投影像の中心画素からの画素数である。

Fig. 8 に、回転中心ずれを含んだ実投影像から、吸収係数の三次元分布を再構成した結果を示す。Fig. 8 (a), (b), (c) は、粒子端面から約 $1\ \mu\text{m}$, $3\ \mu\text{m}$, $5\ \mu\text{m}$ の位置における断面像である。この断面像上で高い輝度で表示されている部分ほど、吸収係数が高いことを示している。Fig. 8 中点線近傍の粒子外周領域では、光の屈折現象により不必要に吸収係数が高く算出されてしまうが、点線内側は吸収係数の断面内二次元分布を表している。実投影像上において点形状として確認できた内部欠陥が、Fig. 8 (b) では、紙面上下方向に対して 150° の角度で引いた直線上において、 $2\ \mu\text{m}$ 程度に伸びた形状として再構成されてしまった。そこで、本実投影像を用いて提案する正規化相関仮想投影像照合アルゴリズムの改善効果を確認した。

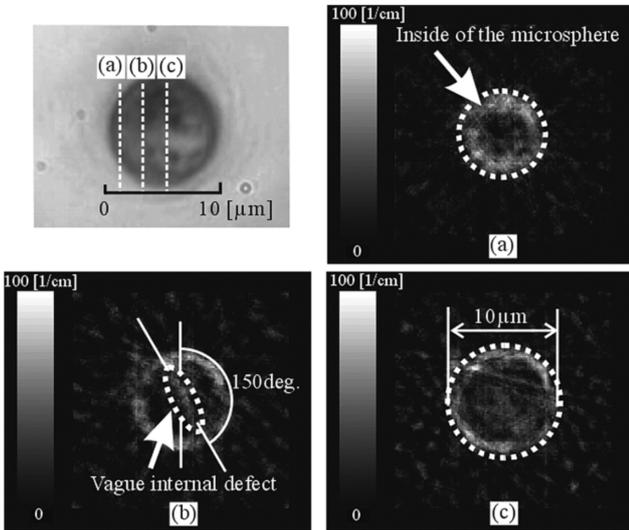


Fig. 8 Cross-sectional images of a microsphere.

Table 2 Learning conditions and results.

Learning conditions	
Weighting factor $\alpha(\Delta x_i)$	20000
Weighting factor $\alpha(\Delta y_i)$	40000
Weighting factor $\alpha(\theta_i)$	15000
Inertia constants β	0.5
$X_0(\Delta x_i[\text{pixel}], \Delta y_i[\text{pixel}], \theta_i[\text{deg.}])$	(0, 0, 0)
$\Delta X_0(\Delta x_i[\text{pixel}], \Delta y_i[\text{pixel}], \theta_i[\text{deg.}])$	(5, 10, -5)
Maximum number of steepest descent method	100
Processing results	
Number of convergent calculation	4
Computation time	16 min 3 s

Table 2 に、正規化相関仮想投影像照合計算に用いた初期値 X_0 、初期更新量 ΔX_0 、荷重係数 α 、慣性定数 β などを示す。また、補正が十分なされたかを判断するため、第 3 章で述べた判定条件を設定する。本実験の場合、テクスチャーの少ない粒子を用いているため、仮想投影像の改善を行っていない収束計算の 1 順目からすでに 0.98 以上の高い相関係数を算出してしまふ。したがって、正規化相関係数の閾値の設定は難しい。そこで、アフィンパラメータの更新量を判定条件として設定することとした。実投影像を撮影した観察光学系の分解能は、開口数 0.7 の対物レンズを用いたため $0.4 \mu\text{m}$ 程度である。また、実投影像の 1 画素のサイズは約 $0.2 \mu\text{m}$ であることから、 Δx_i 、 Δy_i の更新量が 1 画素以下となれば光学的な分解能を満たすため、十分に補正されたと判断できる。 θ_i に関しては、回転移動の影響を大きく受ける投影像の端領域においても、 $0.2 \mu\text{m}$ 程度のずれにしかならない角度として 1° を設定した。以上から、アフィンパラメータの更新量が (1 画素, 1 画素, 1°) 以内に収まれば、十分補正された実投影

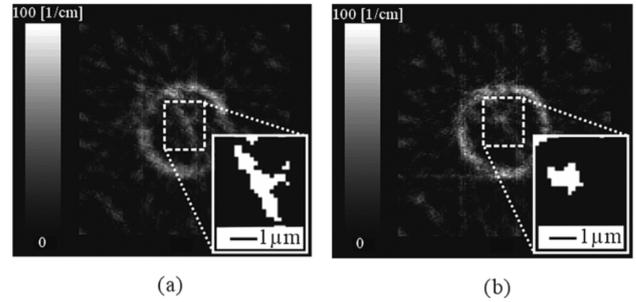


Fig. 9 Improved cross-sectional image of a microsphere.

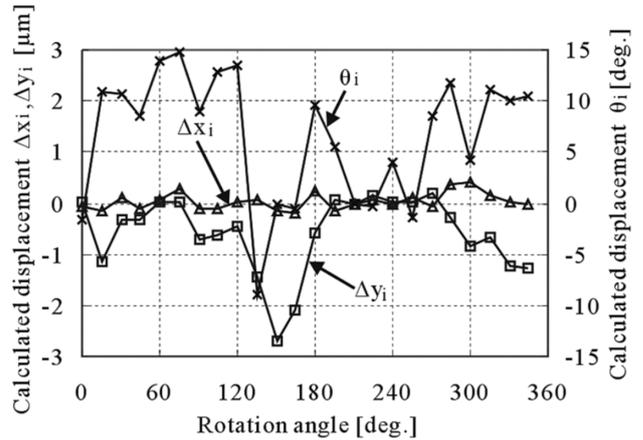


Fig. 10 Analysis result of affine parameters in each projection image.

像を得ることができる。この条件で収束計算を行った結果、4 順目で算出されたアフィンパラメータの更新量がすべての実投影像において (1 画素, 1 画素, 1°) 以内に収まったため、処理を終了した。例えば、 150° の実投影像における相関係数は、1 順目の値 0.98434 に対して 4 順目の値 0.98448 と微小ながらも上昇していることから、数値上での類似度の改善を確認できた。

Fig. 9 に、補正した実投影像から吸収係数の三次元分布を再構成した結果を示す。Fig. 9 (a) は回転中心のずれを含んでいる場合の断面像、Fig. 9 (b) は補正後の断面像である。それぞれ、吸収係数 30 cm^{-1} を閾値として二値化した、内部欠陥付近の拡大像をあわせて表示している。実投影像上で約 $1 \mu\text{m}$ 程度の点形状として目視できる内部欠陥が、Fig. 9 (a) では引き伸ばされた形状で再構成されてしまふが、Fig. 9 (b) では鮮明に点形状として現れている。これにより、本手法の補正効果を確認できた。

Fig. 10 に、補正量の計算結果を、横軸を回転角度、縦軸をアフィンパラメータ (Δx_i , Δy_i , θ_i) としてまとめた。ずれを与えていない Δx_i に関しては、全実投影像においてほぼ 0 となった。ずれを与えた Δy_i に関しては、回転角度 150° において $2.8 \mu\text{m}$ の補正值を算出した。この補正值

は、内部欠陥による屈折率の偏在による回転中心のずれと、二光束の移動量約 $2\mu\text{m}$ の和であると考えられるため、妥当な値である。また、 θ_i に関しては、最大 15° のずれが算出されたが、実投影像を目視したところ、 15° 程度ずれていることを確認できた。

また、計算時間は、16分3秒であった (CPU: Intel Pentium 4 3.6 GHz)。このうち、三次元再構成に要した時間は14分38秒であり、各画像でのアフィンパラメータを最急降下法により算出する時間1分25秒と比べて高い割合を占めることから、計算時間を短縮するには、効率的な再構成手法の確立が効果的である。

6. 結 言

三次元再構成像の空間解像度劣化の大きな要因となる回転中心のずれを補正するため、仮想的に三次元分布から投影像を算出し、実投影像との画像照合を行うことで、補正量を求める正規化相関仮想投影像照合アルゴリズムを提案した。本手法では、仮想投影像を算出する際に設定しなくてはならない光量と、実投影像を撮像する際に照射した光量の違いに依存しない正規化相関係数を評価値として、最急降下法により照合位置を探索的に求めた。

回転試料として、テクスチャーが少なく、画像照合の困難な条件下で評価を行うことができる直径 $10\mu\text{m}$ の標準粒子を選定し、回転中心ずれを含んだ実投影像を撮像した。この実投影像を正規化相関仮想投影像照合アルゴリズムにより補正することで、 $1\mu\text{m}$ 以下の点形状内部欠陥を鮮明に確認できた。

本研究は、独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構 (NEDO 技術開発機構) の平成十六年度産業技術研究助成事業のご支援をいただいている。深く感謝の意を表す。

文 献

- 1) T. Yasokawa, I. Ishimaru, F. Oohira, R. Hyodo, H. Kobayashi, A. Hayashi, Y. Inoue and K. Ishizaki: "Proposal of spectroscopy-tomography of single-cell," *Proc. SPIE*, **5604** (2004) 108-117.
- 2) T. Yasokawa, I. Ishimaru, H. Kobayashi, M. Yoshida, R. Hyoudou, K. Ishizaki, S. Kuriyama, T. Masaki, S. Nakai, K. Takegawa and N. Tanaka: "Spectroscopy-tomography of living single-cells—Cross-sectional imaging of single-cells and variable phase-contrast spectrometry—," *Proc. of Complex Medical Engineering CME2005* (Kagawa, 2005) pp. 934-938.
- 3) 石崎勝己, 石丸伊知郎, 畑 智之, 八十川利樹: "単一細胞分光トモグラフィの提案—近接2光束光ピンセットによる単一細胞6軸制御技術—", 2004年度精密工学会春季大会学術講演会講演論文集 (東京, 2004) pp. 1265-1266.
- 4) 石崎勝己, 石丸伊知郎, 兵頭亮治, 八十川利樹, 小林宏明, 井上祐介: "単一細胞分光トモグラフィの提案—細胞回転制御技術—", *Optics Japan 2004* 日本光学会年次学術講演会講演予稿集 (大阪, 2004) pp. 552-553.
- 5) 吉田 真, 石丸伊知郎, 小林宏明, 石崎勝己, 兵頭亮治, 八十川利樹: "単一細胞分光トモグラフィに関する研究—単一細胞回転制御技術—", 2005年度精密工学会春季大会学術講演会講演論文集 (神奈川, 2005) pp. 459-460.
- 6) M. Yoshida, I. Ishimaru, H. Kobayashi, K. Ishizaki, R. Hyodo, T. Yasokawa, S. Kuriyama, T. Masaki, S. Nakai, K. Takegawa and N. Tanaka: "Spectroscopy-tomography of living single-cells—Rotational control method of single-cells by proximal two-beam optical tweezers—," *Proc. of Complex Medical Engineering CME2005* (Kagawa, 2005) pp. 924-929.
- 7) FEST Project 編集委員会: 新実践画像処理 (リンクス, 2001) pp. 96-98.
- 8) 浮田宏生: マイクロメカニカルフォトリクス (森北出版, 2002) pp. 58-61.
- 9) A. Ashkin and J. M. Dziedzic: "Optical levitation in high vacuum," *Appl. Phys. Lett.*, **28** (1976) 333-335.
- 10) K. Ishizaki, I. Ishimaru, H. Kobayashi, M. Yoshida, R. Hyoudou, T. Yasokawa, S. Kuriyama, T. Masaki, S. Nakai, K. Takegawa and N. Tanaka: "Spectroscopy-tomography of living single-cells—Rotational velocity measurement for low-contrast object—," *Proc. of Complex Medical Engineering CME2005* (Kagawa, 2005) pp. 930-933.
- 11) 英保 茂: システム制御ライブラリー5 医用画像処理 (朝倉書店, 1992) pp. 93-97.